

Tierexperimentelle Untersuchungen
zur hyaluronidase-
spreadinghemmenden Wirkung
des Reserpins

von

RUNHILD ECKELMANN

1961

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Tierexperimentelle Untersuchungen zur hyaluronidase-
spreadinghemmenden Wirkung des Reserpins



Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Runhild Eckelmann
aus
München
1961



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. W. Seitz

Tag der mündlichen Prüfung: 7. November 1961

Inhaltsverzeichnis

Problemstellung	4
Eigene Versuche	8
Methodik	8
Versuchsreihen	8
Berechnung der prozentualen Hemmung	15
Statistische Auswertung	15
Diskussion	25
Zusammenfassung	27
Literaturverzeichnis	28



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555220_0074

Problemstellung

Übereinstimmend wird von K r o n e b e r g und S c h ü m a n n ¹, von Z b e n d e r und S t u d e r ², S c h m i d t ³, H o l t z ⁴, C a l l i n g h a m und M a n n ⁵, M a x w e l l, P l u m m e r, O s b o r n e und R o s e ⁶ und K r o n e b e r g ⁷ festgestellt, daß das Rauwolfiaalkaloid Reserpin zu einer Verarmung des Nebennierenmarkes an Katecholaminen und so auch an Adrenalin führt. Bei diesem Vorgang wird von Z b e n d e r und S t u d e r ² der Monoaminoxidase eine gewisse Rolle zugeschrieben. Diese Autoren stellten fest, daß die Verarmung des Nebennierenmarkes an Katecholaminen nach Reserpin durch Iproniacid als monoaminoxidasehemmender Substanz verhindert werden kann. Sie nehmen an, daß die Monoaminoxidase bei der Freisetzung der Katecholamine aus den Speicherzellen eine gewisse Rolle spielt. H o l t z ⁴ beschreibt, daß Reserpin die Bindungsfähigkeit des Gewebes und der Zellen für alle biogenen Amine aufhebt, was einer Freilassung gleichkommt. Im Anschluß daran soll der Abbau durch die Monoaminoxidase erfolgen. Es sollte in der vorgelegten Arbeit mit einer anders gelagerten Methodik versucht werden, die vorliegenden Verhältnisse des Einflusses von Reserpin auf das Nebennierenmark und den Adrenalinblutspiegel zu bestätigen bzw. weiter aufzuklären.

Methodisch boten Arbeiten von M a t h i e s und Mitarbeiter ⁸⁻¹⁷ über die Wirkungsweise hyaluronidasehemmender Substanzen wertvolle Anhaltspunkte. Diese Autoren konnten am Beispiel der Salicylate ⁸⁻¹⁰, des Phenylbutazons ¹¹, des Chloräthylbenzmethoxazons ¹², des Hydrocortisons und seiner Derivate ¹³ sowie der Moorbäder ¹⁴⁻¹⁷ in Tierversuchen nachweisen, daß deren hyaluronidasehemmende Wirkung an eine Nebennierenmarkfunktion mit einer Freisetzung von Katecholaminen (Adrenalin und Noradrenalin) gebunden ist. Eine Bestätigung dieser Annahme bringen die Arbeiten von M a t h i e s, G l ü c k, P o u l a n t z a s und S c h m i d t ¹⁸⁻¹⁹, nach denen Adrenalin sowohl bei intakten als auch bei adrenaletomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung erzielen läßt (Tabelle 1). Vergleiche mit Registrierungen der Pupillenweite ¹⁸ zeigten, daß die Hyaluronidase-

hemmung zeitlich erst nach Abklingen der primären Adrenalinwirkung auftritt. Hieraus erklärt sich auch der Befund, daß höhere Adrenalindosen später zu einer Hyaluronidasehemmung führen, als das bei geringen Mengen der Fall ist, da höhere Dosen naturgemäß später abgebaut und unwirksam werden als niedrigere. Um die hier vorliegenden Verhältnisse näher aufzuklären, wurden von M a t h i e s und S c h l i e r f ²⁰ Untersuchungen mit Adrenalin-Dauerinjektionen über mehrere Stunden bei adrenaletomierten Ratten durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, daß auch hier erst in einem gebührenden Abstand nach Absetzen der Infusion die Hyaluronidasehemmung deutlich wird (Tabelle 2). Wenn man zusätzlich zur laufenden Infusion von 0,5 γ /100 /min zu Beginn und einmal während der Infusion "Spitzen" von 6 γ bzw. 3 γ Adrenalin setzt, so tritt bereits während der Infusion in einem gewissen Zeitabstand nach diesen zusätzlichen Injektionen eine signifikante Hyaluronidasehemmung ein (Tabelle 3). Aus diesen Versuchsergebnissen wird geschlossen, daß eine Hyaluronidasehemmung erst dann sichtbar wird, wenn ein Absinken des Adrenalinblutspiegels auf ein niedrigeres Niveau stattfindet. M a t h i e s und Mitarbeiter ¹⁹ haben zeigen können, daß die durch Adrenalin hervorgerufene Hyaluronidasehemmung durch vorherige Gabe von 0,8 mg/100 g Ergotamintartrat als Adrenolyticum im Sinne einer Adrenalinumkehr aufgehoben wird (Tabelle 4). Ergotamintartrat verhindert nach Untersuchungen von M a t h i e s und Mitarbeitern ¹⁹ auch die Hyaluronidasehemmung des Natriumsalicylates und des Prednisolons, des Oestron-sulfates und der Moorbäder. Dieses erscheint verständlich, wenn man annimmt, daß die Wirkung hyaluronidasehemmender Substanzen über eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark zustandekommt. Ebenso konnte am Beispiel des Natriumsalicylates gezeigt werden, daß seine hyaluronidasehemmende Wirkung durch vorherige Applikation von Ganglienblockern aufgehoben werden kann ²¹.

Durch diese Ergebnisse und Versuchsanordnungen werden Möglichkeiten gegeben, den Einfluß von Reserpin auf das Nebennierenmark und eine eventuelle Freisetzung von Katecholaminen zu studieren.

	Intakte Ratten	Adrenalektomierte Ratten		
	15' nach 1 γ /100 g Adrenalin i.v.	0'nach	15'nach	45'nach
		1 γ /100 g Adrenalin i.v.		
Hyaluronidase- hemmung	41,6%	4,6%	52,5%	29,7%
Statistische Sicherung	1%	-	1%	1%

T a b e l l e 1

Hyaluronidasehemmung durch einmalige Gabe von
1 γ Adrenalin bei intakten und adrenalektomierten
Ratten

	Adrenalektomierte Ratten				
	15'nach Beginn der 120 Minuten-Dauerinjektion	45'nach	80'nach	120'nach	45'nach Absetzen
Hyaluronidase- hemmung	1,5%	-3,0%	-3,6%	1,2%	31,0%
Statistische Sicherung	-	-	-	-	5%

T a b e l l e 2

Hyaluronidasehemmung während und nach einer Adrenalin-
Dauerinjektion über 120 Minuten (anfangs 1 γ /100 g/min,
dann 0,5 γ /100 g/min i.v.)

Adrenalektomiertere Ratten
 45'nach 55'nach 70'nach 85'nach 100'nach 115'nach 130'nach
 Beginn der 130 Minuten-Dauerinjektion mit "Spitzen"

Hyaluronidase- hemmung	42,4%	-2,7%	5,1%	8,0%	43,5%	29,9%	8,5%
Statistische Sicherung	2%	-	-	-	2%	-	-

Tabelle 3

Hyaluronidasehemmung während einer Adrenalin-Dauerinjektion über 130 Minuten
 (anfangs 6γ/100 g/10 Min, dann 0,5γ/100 g/min, 50 Minuten nach Injektions-
 beginn 3γ/100 g/min, dann weiter 0,5γ/100 g/min i.v.)

	15' nach 1γ/100g Adrenalin	15'nach 1γ/100 g Adrenalin i.v., dieses 30' nach 0,8 mg/100 g Ergotamintartrat s.c.
Hyaluronidase- hemmung	41,6%	- 1,9%
Statistische Sicherung	1%	-

Tabelle 4

Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin ohne und nach
 Ergotamintartrat

Eigene Versuche

Methodik

Es wurden weiße männliche Ratten im Gewicht von 150 bis 200 g verwendet. Bei den Versuchsreihen wurden die Tiere zunächst mit Äther, dann mit Evipan (30 - 60 mg/100 g Ratte) s.c. narkotisiert.

Die Hyaluronidasehemmung wurde durch einen auf dem Spreadingeffekt beruhenden Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeltest festgestellt. Es wurde vor und zu verschiedenen Zeiten nach s.c. Applikation der zu prüfenden Substanz je eine Quaddel mit 0,1 ccm einer 0,06%igen Evansblaulösung und eine solche mit 0,1 ccm Farbstoff+Hyaluronidase gesetzt. Hierzu wurde eine Trockenampulle Hyaluronidase (Kinetin) mit 150 I.E. in 2 ccm der oben angegebenen, verdünnten Evansblaulösung gelöst, so daß in 0,1 ccm jeweils 7,5 I.E. injiziert wurden. Die Quaddeln wurden streng intracutan mit einer sehr feinen Kanüle in die mit Pilca schonend enthaarte Bauchhaut gesetzt. Die Diffusionsgeschwindigkeit des Farbstoffes wurde 10 Minuten nach der Quaddelinjektion an der erreichten Ausbreitung gemessen. Die Konturen wurden auf einen durchsichtigen Zelluloidstreifen übertragen und dann planimetrisch ausgemessen. Nach *M a d i n a v e i t i a*²² geht die Ausbreitung in zwei Phasen vor sich, bei welchen nur die erste, innerhalb 10 Minuten ablaufende Reaktion sicher ein Effekt der Hyaluronidase ist.

Die Adrenalektomie wurde in Äthernarkose durchgeführt. Die Tiere wurden nach 48 Stunden, in denen ihnen physiologische Kochsalzlösung als Trinkflüssigkeit und Haferflocken mit Zucker als Nahrung gegeben wurde, für die Versuche verwendet. Nach diesem Intervall ist nach *K a r g*²³, *B a c h m a n n*²⁴, und *C a n a l i s*²⁵ eine Regeneration funktionstüchtigen akzessorischen Nebennierengewebes kaum zu befürchten.

1. Versuchsreihe

Bei normalen Ratten wurde Reserpin in einer Dosis von 0,05 mg/100 g Tiergewicht s.c. injiziert. Den niedrigen Tiergewichten entsprechend, war eine Verdünnung mit physiologischer NaCl-Lösung im Verhältnis 1:4 notwendig. 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten (Versuchsreihe 1a-e)

nach der Applikation wurde die Hyaluronidasehemmung nach oben angegebener Methode bestimmt. Bei 60 Minuten konnte eine maximale Hemmung festgestellt werden. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle 5-9, 25-29.

2. Versuchsreihe

Es wurde in gleicher Weise vorgegangen wie in der 1. Versuchsreihe, jedoch wurden adrenaletomierte Tiere, und zwar mit dem Maximalwert 60 Minuten nach Reserpinapplikation verwendet. Dabei konnte keine Hemmung festgestellt werden. Ergebnisse in Tabelle 10 u. 30.

3. Versuchsreihe

Ergotamintartrat, in einer Dosis von 0,8 mg/100 g s.c. 30 Minuten vor Reserpin appliziert, zeigte keine Blockierung der Reserpinwirkung (60 Minuten nach Reserpingabe) wie aus Tabelle 11 u. 31 hervorgeht.

4. Versuchsreihe

In dieser Versuchsreihe wurde der Einfluß des Ganglienblockers Pendiomid 5 mg/Tier i.v. 15, 45 und 30 Minuten vor Reserpingabe (Versuchsreihe 4a-c) auf die Hyaluronidasehemmung des Reserpins geprüft. Die hyaluronidasehemmende Wirkung des Reserpins konnte nicht aufgehoben werden (Tabelle 12-14, 32-34).

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel vor mm ²	30'nach mm ²	Farbstoff+Hyase-Quaddel vor mm ²	30'nach mm ²
1	150	128	120	208	156
2	150	124	120	216	156
3	170	132	124	212	172
4	150	124	120	200	156
5	160	124	116	216	164

T a b e l l e 5

(Versuchsreihe 1 a; 0,05 mg Reserpin/100 g Tier
bei intakten Ratten)

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel vor mm ²	60'nach mm ²	Farbstoff+Hyase-Quaddel vor mm ²	60'nach mm ²
6	180	120	122	216	120
7	195	124	112	224	124
8	160	120	108	212	128
9	175	128	104	216	128
10	180	124	108	208	120
11	160	120	108	220	124

T a b e l l e 6

(Versuchsreihe 1b; 0,05 mg Reserpin/100 g Tier bei
intakten Ratten)

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	90'nach mm ²	vor mm ²	90'nach mm ²
12	180	120	112	216	136
13	195	124	112	224	140
14	160	120	116	212	148
15	175	128	104	216	140
16	160	120	116	220	156

T a b e l l e 7

(Versuchsreihe 1c; 0,05 mg Reserpin/100 g Tier bei
intakten Ratten)

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	120'nach mm ²	vor mm ²	120'nach mm ²
17	150	136	132	216	196
18	140	136	132	224	196
19	130	136	120	224	196
20	120	136	116	220	196
21	140	136	112	232	208
22	150	136	120	224	200

T a b e l l e 8

(Versuchsreihe 1d; 0,05 mg Reserpin/100 g Tier bei
intakten Ratten)

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	150'nach mm ²	vor mm ²	150'nach mm ²
23	140	116	112	212	200
24	160	120	116	224	220
25	160	116	104	220	216
26	160	116	116	220	212
27	135	124	116	220	200

T a b e l l e 9

(Versuchsreihe 1e; 0,05 mg Reserpin/100 g Tier bei
intakten Ratten)

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
		vor mm ²	60'nach mm ²	vor mm ²	60'nach mm ²
1	135	124	120	180	176
2	145	140	120	204	200
3	150	160	120	228	212
4	135	136	120	200	188
5	150	124	120	204	196

T a b e l l e 10

(Versuchsreihe 2; 0,05 mg Reserpin/100 g Tier bei
adrenalektomierten Ratten)

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel vor mm ²	60'nach mm ²	Farbstoff+Hyase-Quaddel vor mm ²	60'nach mm ²
1	190	124	124	224	132
2	160	152	140	204	152
3	180	152	156	200	156
4	170	156	132	208	168
5	200	152	148	208	152

T a b e l l e 11

(Versuchsreihe 3; 0,05 mg Reserpin/100 g dieses nach
0,8 mg Ergotamintartrat/100 g Tier i.v.)

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel vor mm ²	60'nach mm ²	Farbstoff+Hyase-Quaddel vor mm ²	60'nach mm ²
1	200	148	144	220	152
2	185	148	140	232	156
3	210	136	124	224	132
4	215	136	128	228	136
5	180	136	132	220	132

T a b e l l e 12

(Versuchsreihe 4a; 0,05 mg Reserpin/100 g Tier,
dieses nach 5 mg Pendiomid/Tier)

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel vor mm ²	60'nach mm ²	Farbstoff+Hyase-Quaddel vor mm ²	60'nach mm ²
11	180	140	136	232	180
12	220	144	144	232	176
13	200	144	116	212	156
14	190	148	132	220	164
15	220	128	128	224	156

T a b e l l e 13

(Versuchsreihe 4b; 0,05 mg Reserpin/100 g Tier, dieses
45' nach 5 mg Pendiomid/Tier)

Tier Nr.	Tier- gewicht in g	Farbstoff-Quaddel vor mm ²	60'nach mm ²	Farbstoff+Hyase-Quaddel vor mm ²	60'nach mm ²
6	200	168	164	284	220
7	130	132	124	224	164
8	140	160	156	232	184
9	210	120	112	220	152
10	190	184	180	260	232

T a b e l l e 14

(Versuchsreihe 4c; 0,05 mg Reserpin/100 g Tier,
dieses 30'nach 5 mg Pendiomid/Tier)

Berechnung der prozentualen Hemmung

Zur Berechnung der prozentualen Hemmung wurde die Ausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor Gabe der zu prüfenden Substanzen einer 0%igen Hemmung der Hyaluronidaseaktivität gleichgesetzt. Die Farbstoffquaddel vor Injektion der betreffenden Substanzen entspricht einer 100%igen Hyaluronidasehemmung, da eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel mit vollständig gehemmter Hyaluronidasewirkung die gleiche Ausbreitung des Farbstoff-Fleckes aufweisen würde. Unter Zugrundelegung dieser beiden Festpunkte wurde das Ausmaß der hyaluronidasehemmenden Wirkung der geprüften Substanzen aus der Flächenausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach Applikation der betreffenden Substanzen prozentual berechnet. Die Farbstoffquaddel nach Injektion der untersuchten Stoffe wird in dieser Berechnung nicht berücksichtigt, sie dient jedoch in der statistischen Auswertung der Feststellung, ob die untersuchten Stoffe auch auf die reine Farbstoffquaddel einen Hyaluronidase unspezifischen hemmenden Effekt ausüben. Die Ergebnisse der prozentualen Berechnung finden sich in Tabelle 25-34.

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

I. Schätzung des Versuchsfehlers

Bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse war sowohl für die reine Farbstoff-Quaddel als auch für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zu prüfen, ob durch die Belastung mit Reserpin bzw. mit Reserpin und einem anderen Präparat eine Änderung in der Ausbreitung dieser Quaddeln bewirkt wird. Grundsätzlich hätte diese Prüfung für jeden der beiden Quaddel-Typen einzeln mittels des Student-Testes durchgeführt werden können. Bei insgesamt 5 Versuchstieren je Versuchsreihe hätten bei dieser Prüfung 8 Freiheitsgrade für die t-Verteilung zur Verfügung gestanden. Zur Erhöhung der Präzision der statistischen Aussage zogen wir es jedoch vor, für die insgesamt 4 Meßreihen je Versuchsreihe (je 2 Meßreihen für die reine Farbstoff-Quaddel und für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel) eine zweifache Varianz-Analyse durchzuführen, deren Rest-Varianz wir als eine Schätzung des Versuchsfehlers auffaßten. Dieser Rest-Varianz kommen dann 12 Freiheitsgrade zu, wodurch die gewünschte Erhöhung der Präzision der statistischen Aussage erreicht wird, außerdem war zu erwarten, daß die Rest-Varianz etwas kleiner ist als die Varianz innerhalb der einzelnen Meßreihen.

Die Durchführung der Varianz-Analysen ist allerdings nur dann sinnvoll, wenn die Varianzen innerhalb der einzelnen Meßreihen untereinander homogen sind. Ob dieses zutrifft, prüften wir mittels des Bartlett-Testes. Die Ergebnisse dieses Testes finden sich in den Tabellen 15-24 im Anschluß an die jeweils zugehörige Varianz-Analyse. n bedeutet hierin die Zahl der Freiheitsgrade der Chi-Quadrat-Verteilung, die als Prüf-Verteilung in den Bartlett-Test eingeht.

$\chi^2_{\text{emp.}}$ ist die errechnete Prüf-Größe, p die Überschreitungswahrscheinlichkeit von $\chi^2_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen Prüf-Verteilung. In keinem Falle ist diese Überschreitungswahrscheinlichkeit kleiner als 5%; es darf also angenommen werden, daß bei allen Versuchsreihen die Varianzen innerhalb der Meßreihen untereinander homogen sind. Die Anwendung der Varianz-Analysen zur Schätzung des Versuchsfehlers ist somit gerechtfertigt.

Das Ergebnis der Varianz-Analysen findet sich in den Tabellen 15-24. Hier interessiert lediglich die Größe der Rest-Varianz, die wir der Prüfung der Mittelwertdifferenzen zwischen den Quaddel-Größen vor und nach Belastung zugrundelegten. In den Schemata der Varianz-Analysen bedeutet SAQ das Summen-Abstands-Quadrat, MAQ das Mittlere-Abstands-Quadrat und n die Zahl der Freiheitsgrade für die jeweilige Varianz-Komponente. Da bei der vorliegenden Form der Versuchsanordnung nur je 2 Meßreihen für die Farbstoff- bzw. Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln den Varianz-Quotienten zwischen den einzelnen Varianz-Komponenten keine Bedeutung zukommt, wurde diese in den Schemata der Varianz-Analysen nicht angegeben.

II. Prüfung der Mittelwertdifferenzen

Unter Verwendung des in den Varianz-Analysen ermittelten Versuchsfehlers (Rest-Varianz) wurde die Differenz zwischen den Mittelwerten der reinen Farbstoff- bzw. der reinen Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor und nach Belastung mittels des von Duncan entwickelten Testes zur simultanen Prüfung mehrerer Mittelwertdifferenzen vorgenommen. Das Ergebnis dieses Testes findet sich in den Tabellen 25-34.

Die Tabellen 25-34 enthalten zunächst in der mit $\bar{x}$ angegebenen Spalte den jeweiligen Mittelwert eines Quaddel-Typus vor und nach Belastung (E: reine Farbstoff-Quaddel; H: Farbstoff+Hyaluronidase-

Quaddel). In der mit s^2 überschriebenen Spalte ist die Varianz der Meßwerte innerhalb der betreffenden Testreihe angegeben. Die Differenz zwischen den Mittelwerten vor und nach Belastung findet sich in der Spalte $\bar{x}_t - \bar{x}_0$. Für diese Differenzen wurde mittels des Duncan-Testes geprüft, ob sie statistisch wesentlich von 0 verschieden sind. Kann dieses mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit behauptet werden, die nicht größer als 5% ist, so wurde diese Irrtumswahrscheinlichkeit in der Spalte Sicherung angegeben. Nur in diesen Fällen kann als statistisch schwach bzw. ausreichend gesichert gelten, daß zwischen den Mittelwerten vor und nach Belastung ein gesicherter Unterschied besteht. Die in der üblichen Weise berechnete prozentuale Hyaluronidasehemmung findet sich schließlich in der Spalte Hemmung der Tabellen 25-34. Zur Vermeidung von Abrundungsfehlern wurden bei ihrer Berechnung nicht die Mittelwerte, sondern die Gesamtsumme der gemessenen Werte zugrunde gelegt.

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	213	53	2,52	-
Zwischen Stufen	3	25.721	8.574	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	255	21		
Gesamt-Varianz	19	26.189	1.378		

$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 4,345; p = 20\%$

T a b e l l e 15
(Versuchsreihe 1a)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	87	17	-	
Zwischen Stufen	3	43.022	14.341	100,00	0,1%
Rest-Varianz	15	385	26		
Gesamt-Varianz	23	43.494	1.891		

$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 4,104; p = 20\%$

T a b e l l e 16
(Versuchsreihe 1b)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	120	40	1,29	-
Zwischen Stufen	3	34.037	11.345	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	367	31		
Gesamt-Varianz	19	34.524	1.817		

$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,633; p = 30\%$

T a b e l l e 17
(Versuchsreihe 1c)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	72	14	-	
Zwischen Stufen	3	42.757	14.252	100,00	0,1%
Rest-Varianz	15	531	35		
Gesamt-Varianz	23	43.360	1.885		

$n = 3$; $\chi^2_{\text{emp.}} = 1,824$; $p = 50\%$

T a b e l l e 18
(Versuchsreihe 1d)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	228	67	2,85	-
Zwischen Stufen	3	50.022	16.674	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	237	20		
Gesamt-Varianz	19	50.487	2.657		

$n = 3$; $\chi^2_{\text{emp.}} = 2,484$; $p = 30\%$

T a b e l l e 19
(Versuchsreihe 1e)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.893	473	6,48	1,0%
Zwischen Stufen	3	25.680	8.560	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	872	73		
Gesamt-Varianz	19	28.445	1.497		

$n = 3$; $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,213$; $p = 95\%$

T a b e l l e 20
(Versuchsreihe 2)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	648	162	1,16	-
Zwischen Stufen	3	14.966	4.989	35,63	0,1%
Rest-Varianz	12	1.682	140		
Gesamt-Varianz	19	17.296	910		

$$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,699; p = 80\%$$

T a b e l l e 21
(Versuchsreihe 3)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	747	187	6,68	1,0%
Zwischen Stufen	3	28.015	9.338	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	341	28		
Gesamt-Varianz	19	29.103	1.532		

$$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,786; p = 30\%$$

T a b e l l e 22
(Versuchsreihe 4a)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	12.573	3.143	31,43	0,1%
Zwischen Stufen	3	29.840	9.946	99,46	0,1%
Rest-Varianz	12	1.200	100		
Gesamt-Varianz	19	43.613	2.295		

$$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,415; p = 90\%$$

T a b e l l e 23
(Versuchsreihe 4b)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	917	229	5,09	5,0%
Zwischen Stufen	3	26,040	8,680	100,00	0,1%
Rest-Varianz	12	536	45		
Gesamt-Varianz	19	27.501	1.447		

$$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,752; p = 80\%$$

T a b e l l e 24
(Versuchsreihe 4c)

	N	$\bar{x}$	s ²	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
E ₀	5	126	13			
H ₀	5	210	45			
E _{30'}	5	120	8	- 6		5%
H _{30'}	5	161	51	- 49	56,9%	1%

T a b e l l e 25
(Versuchsreihe 1a)

	N	$\bar{x}$	s ²	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
E ₀	6	122	9			
H ₀	6	216	32			
E _{60'}	6	110	39	- 12		1%
H _{60'}	6	124	13	- 92	92,5%	1%

T a b e l l e 26
(Versuchsreihe 1b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
E ₀	5	122	13			
H ₀	5	218	21			
E _{90'}	5	112	24	- 10		5%
H _{90'}	5	144	64	- 74	73,3%	1%

T a b e l l e 27
(Versuchsreihe 1c)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
E ₀	6	136	40			
H ₀	6	223	28			
E _{120'}	6	122	69	- 14		1%
H _{120'}	6	198	23	- 25	26,1%	1%

T a b e l l e 28
(Versuchsreihe 1d)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_0$	Hemmung	p
E ₀	5	148	13			
H ₀	5	274	19			
E _{150'}	5	141	27	- 7		-
H _{150'}	5	264	57	- 10	7,3%	5%

T a b e l l e 29
(Versuchsreihe 1e)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
E ₀	5	137	219			
H ₀	5	203	291			
E _{60'}	5	120	230	- 17		1%
H _{60'}	5	194	181	- 9	11,8%	-

T a b e l l e 30
(Versuchsreihe 2)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
E ₀	5	147	171			
H ₀	5	209	83			
E _{60'}	5	140	160	- 7		-
H _{60'}	5	152	168	- 57	87,1%	1%

T a b e l l e 31
(Versuchsreihe 3)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
E ₀	5	141	43			
H ₀	5	225	27			
E _{60'}	5	134	69	- 7		-
H _{60'}	5	142	133	- 83	94,9%	1%

T a b e l l e 32
(Versuchsreihe 4a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
E ₀	5	153	691			
H ₀	5	244	744			
E _{60'}	5	147	803	- 5		-
H _{60'}	5	190	1205	- 54	57,0%	1%

T a b e l l e 33
(Versuchsreihe 4b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
E ₀	5	141	59			
H ₀	5	224	72			
E _{60'}	5	131	107	- 10		5%
H _{60'}	5	166	125	- 58	65,4%	1%

T a b e l l e 34
(Versuchsreihe 4c)

Diskussion

Die Versuche haben gezeigt, daß die Injektion von 0,05 mg/100 g Reserpin zu einer signifikanten Hemmung der Hyaluronidaseaktivität mit einem Maximum von 60 Minuten p.i. führt. Nach den eingangs erwähnten Arbeiten von M a t h i e s und Mitarbeitern^{18,20} besagt dieses Ergebnis, daß ein Absinken des Adrenalinblutspiegels auf ein niedrigeres Niveau stattgefunden haben muß. Nach den Ergebnissen der Versuchsreihe 3 ist nicht anzunehmen, daß dieses Absinken im Anschluß an eine vorübergehende Adrenalinausschüttung aus dem Nebennierenmark stattgefunden hat, da sonst die vorherige Gabe von Ergotamintartrat die hyaluronidasehemmende Wirkung hätte aufheben müssen. Es kann deshalb angenommen werden, daß der Blutadrenalin-
spiegel nach Reserpin unter das Normalniveau absinkt, und daß durch diese Niveaudifferenz die Hyaluronidasehemmung ausgelöst wird. Gegen diese Folgerung spricht auch nicht das Ergebnis der Versuchsreihe 2, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Reserpin bei adrenalectomierten Ratten ausbleibt. Dieses Verhalten kann dadurch erklärt werden, daß der Adrenalinblutspiegel 48 Stunden nach Adrenalectomie bereits ein Minimum erreicht hat, das eine weitere Beeinflussung durch Reserpin ausschließt. Hierfür spricht auch das Ergebnis der Versuchsreihe 4, daß mit Pendiomid als Ganglienblocker die hyaluronidasehemmende Wirkung des Reserpins nicht aufzuheben ist. Es kann also keine Adrenalinausschüttung durch Reserpin in der gleichen Weise wie z.B. nach Natriumsalicylat vorliegen, dessen hyaluronidasehemmende Wirkung nach Untersuchungen von M a t h i e s und S c h w a l b a c h²¹ durch Ganglienblocker verhindert wird. Wenn trotzdem nach den eingangs erwähnten Arbeiten verschiedener Autoren¹⁻⁶ ein Absinken des Katecholamingehaltes des Nebennierenmarkes nach Reserpin gefunden wurde, so können unsere Befunde nicht allein durch eine Blockade der Adrenalinausschüttung aus dem Nebennierenmark erklärt werden. Es ist vielmehr anzunehmen, daß eine allgemeine Verarmung an Adrenalin durch Reserpin einsetzt, die sowohl den Nebennierenmarkgehalt als auch den Adrenalinblutspiegel betrifft. In gleicher Richtung liegende Ergebnisse von H o l z b a u e r und

Vogt²⁶, Bertler, Carlsson und Rosegren²⁷, Taketomo, Shore, Tomich, Kuntzman u. Brodie²⁸, Brodie, Olim, Kuntzman und Shore²⁹, Pletscher³⁰ und Kroneberg⁷ die die Herabsetzung des Katecholamingehaltes verschiedener Gewebe durch Reserpin gefunden haben. Burger³¹ beschreibt ein Absinken des Katecholamingehaltes des Blutplasmas. Pletscher³⁰ konnte feststellen, daß auch die Abnahme des Katecholamingehaltes des Gehirnes nach Reserpin durch Vorbehandlungen mit Iproniacid signifikant abgeschwächt wird. Nach den Ergebnissen der vorgelegten Arbeit ist im Zusammenhang mit bereits vorliegenden Versuchen anderer Autoren² eine Beeinflussung der Monoaminoxidase im potenzierenden Sinne zu diskutieren.

Zeller, Barsky und Bermann³², Griesemer, Barsky, Dragstedt, Zeller und Wells³³, Zeller, Barsky, Bermann und Fouts³⁴, Corne und Graham³⁵ nehmen an, daß der Abbau des Adrenalins nicht nur durch die Monoaminoxidase erfolgt. Es besteht deshalb auch die Möglichkeit, daß Reserpin auf andere Weise einen Katecholaminabbau bewirkt. Nach den vorgelegten Untersuchungen muß deshalb der chemische Wirkungsmechanismus des Reserpins vorläufig offen bleiben. Bestätigt bzw. nachgewiesen werden konnte, daß Reserpin wohl zu einer Abnahme des Adrenalingehaltes des Nebennierenmarkes führen mag, der jedoch nicht einer Ausschüttung im Sinne einer vorübergehenden Steigerung des Adrenalinblutspiegels entspricht. Auch eine gewöhnliche Blockierung der Adrenalinausschüttung scheidet damit aus. Es wird vielmehr ein allgemeiner Adrenalinabbau angenommen, dessen Folge ein Sinken des normalen Adrenalinblutspiegels ist.

Zusammenfassung

Auf Grund der Erkenntnisse früherer Arbeiten, nach denen eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität bei Absinken des Adrenalinblutspiegels auf ein niedrigeres Niveau eintritt, wurde versucht, auf dem Wege der Beeinflussung der Hyaluronidaseaktivität durch Reserpin nähere Einblicke über die Wirkungsweise des Rauwolfiaalkaloids zu erhalten. Es konnte gezeigt werden, daß Reserpin zu einer Hyaluronidasehemmung führt, die durch Ergotamintartrat als Adrenolyticum und Pendiomid als Ganglienblocker nicht aufzuheben ist. Hierdurch wurde wahrscheinlich gemacht, daß durch Reserpin ein Absinken des normalen Adrenalinblutspiegels erfolgt. Im Zusammenhang mit dem Befund anderer Autoren eines gleichzeitigen Absinkens des Katecholamingehaltes der Nebenniere kann das Absinken des Adrenalinblutspiegels nicht im Sinne einer reinen Blockade der Adrenalinausschüttung erklärt werden. Es ist vielmehr anzunehmen, daß Reserpin eine allgemeine Blockade bzw. einen Abbau des Adrenalins im Nebennierenmark, in den Geweben und im Blutplasma bedingt. Möglichkeiten dieser Wirkungsweise werden diskutiert.

Literaturverzeichnis

- 1) Kroneberg, G. u. Schümann, H.J.: Arzneimittelforsch. 7, 279 (1957)
- 2) Zbender, G. u. Studer, A.: Experientia XIV, 201 (1958)
- 3) Schmidt, K.: Wien. klin. Wschr. 69, 27 (1957)
- 4) Holtz, P.: Dtsch. med. Wschr. 83, 681 (1958)
- 5) Callingham, B.A. u. Mann, M.: Nature, 182, 1020 (1958)
- 6) Maxwell, A., Plummer, A.J., Osborne, M.W., Rose, S.: J. Pharm.
Exp. Therap. 116, 1 (1956)
- 7) Kroneberg, G.: Pharmazeut. Zeitung 102, 1193 (1957)
- 8) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
- 9) Mathies, H.: Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
- 10) Mathies, H.: Med. Mschr. 11, 791 (1957)
- 11) Mathies, H., Biechele, I. u. Hartmann, M.: Ärztl. Forsch. XIV, 160 (1960)
- 12) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Arzneimittelforsch. 9, 576 (1959)
- 13) Mathies, H.: Zschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
- 14) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 503 (1958)
- 15) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 582 (1958)
- 16) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. im Druck
- 17) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 17, 375 (1958)
- 18) Mathies, H.: Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (1960)
- 19) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. u. Schmidt, D.: Med. exp.
1, 64 (1959)
- 20) Mathies, H. u. Schlierf, G.: im Manuskript
- 21) Mathies, H. u. Schwalbach, C. im Manuskript
- 22) Madinaveitia, J.: Biochemic. J. 32, 1806 (1938)
- 23) Karg, H.: persönliche Mitteilung
- 24) Bachmann, R.: Handb. d. mikroskop. Anatomie des Menschen. Bd. VI/5,
S. 222 ff., Berlin/Göttingen/Heidelberg: Springer 1954
- 25) Canalis, P.: Intern. Mschr. Anat. 4, 312 (1887) zit. Bachmann, R. (24)
- 26) Holzbauer, M. u. Vogt, M.: Neurochem. J. 1, 8 (1956) zit. Kroneberg, G. (7)
- 27) Berker, A., Carlsson, A. u. Rosegren, E.: Naturwissenschaften 43, 521 (1956)
- 28) Taketomo, J., Shore, P.A., Tomisch, E.G., Kuntzman, R., Brodie, B.B.:
J. Pharmak. exp. Ther. 119, 188 (1957)

- 29) Brodie, B.B., Olim, J.S., Kuntzman, R.G. u. Shore, P.A.: Science
125, 1293 (1957)
- 30) Pletscher, A.: Schweiz. med. Wochr. 87, 1532 (1957)
- 31) Burger, M.: Helv. physiol. Acta 14, C 13 (1956)
- 32) Beller, E.A., Barsky, J. u. Bermann, E.F.: J. biol. Chem. 214, 267 (1955)
- 33) Griesemer, F.C., Barsky, J., Dragstedt, C.A., Wells, J.A. u. Zeller, E.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 84, 699 (1953)
- 34) Zeller, E.A. u. Barsky, J., Bermann, E.R. u. Fouts, J.R.: J. Allergy
25, 69 (1954)
- 35) Crone, S.J. u. Graham, J.D.P.: J. Physiol. 135, 339 (1957)

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates. Herrn Dr. H. Mathies danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und der Abfassung der Arbeit. Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich bin ich für die Durchführung der statistischen Berechnungen dankbar.

Am 13. August 1935 wurde ich, Runhild Eckelmann, als Tochter des Diplomvolkswirts Bernhard Eckelmann und seiner Ehefrau Karla geb. Alt geboren. Von 1941 bis 1950 besuchte ich die Volksschule in Weimar, Freital /Sachsen und Kattendorf /Holstein. 1950 kam ich auf das Oberrealgymnasium in Bad Segeberg /Holstein und danach auf die Gisela Oberrealschule in München. Dort machte ich 1955 mein Abitur und begann im Wintersemester 1955/56 mit dem Studium der Medizin an der Universität München. Im April 1958 bestand ich die ärztliche Vorprüfung. Ich blieb auch während der klinischen Semester in München und beendete mein Studium im Juli 1961 mit dem medizinischen Staatsexamen. Ich promovierte am 7. November 1961 in München.

